

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU (11) **2 281 946** (13) C1

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ  
(51) МПК

[C07D 417/04 \(2006.01\)](#)

[C07D 285/16 \(2006.01\)](#)

[A61K 31/549 \(2006.01\)](#)

[A61P 31/12 \(2006.01\)](#)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: не действует (последнее изменение статуса: 28.09.2010)

(21)(22) Заявка: [2005129447/04](#), 21.09.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
21.09.2005

(45) Опубликовано: [20.08.2006](#) Бюл. № 23

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 2157210 C2, 10.10.2000. RU  
2152943 C1, 20.07.2000. RU 2259371 C2,  
27.08.2005. EP 0276804 A1, 03.08.1988.

Адрес для переписки:

620002, г.Екатеринбург, ул. Мира, 19,  
УГТУ-УПИ, центр интеллектуальной  
собственности, Т.В. Маркс

(72) Автор(ы):

Чупахин Олег Николаевич (RU),  
Сидорова Лариса Петровна (RU),  
Русинов Владимир Леонидович (RU),  
Беланов Евгений Федорович (RU),  
Балахнин Сергей Маркович (RU),  
Бормотов Николай Иванович (RU),  
Сандахчиев Лев Степанович (RU)

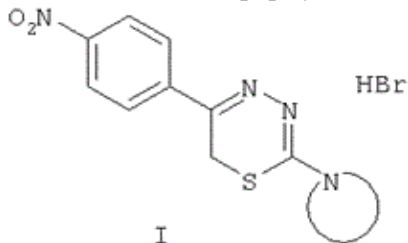
(73) Патентообладатель(и):

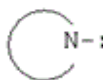
ГОУ ВПО Уральский государственный  
технический университет-УПИ (RU)

(54) 2-ЦИКЛОАЛКИЛИМИНО-5-(4-НИТРОФЕНИЛ)-1,3,4-ТИАДИАЗИНЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ  
БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРОТИВ ВИРУСОВ ОСПЫ

(57) Реферат:

Изобретение относится к новым 2-циклоалкилимино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-  
тиадиазидам общей формулы I:



где  пиперидино; пирролидино; метилпиперазино; гексаметиленимино,

которые обладают биологической активностью против вирусов оспы. Технический  
результат - получены новые биологически активные соединения, обладающие  
противовирусным действием, в частности в отношении вирусов оспы. 1 н.п. ф-лы, 1  
табл.

Изобретение относится к области биологически активных соединений, касается  
разработки новых производных 1,3,4-тиадиазинов, и предназначено для лечения и

профилактики заболеваний, вызываемых патогенными для человека и животных вирусами, а также вирусом оспавакцины (лечение поствакцинальных осложнений).

Проблема разработки противовирусных препаратов актуальна на протяжении всего периода существования человечества. Среди вирусных инфекций выделяются такие возбудители особо опасных вирусных инфекций, как вирус натуральной оспы, вызывающий тяжелое заболевание у человека с летальностью до 60%. Наиболее эффективным способом профилактики натуральной оспы является вакцинация с использованием вируса оспавакцины, однако при проведении массовой вакцинации возможно появление значительного количества поствакцинальных осложнений. Кроме того, в природе вирус оспы существует у коров, который способен вызывать заболевание и у человека. В экваториальной Африке в последние годы отмечаются вспышки оспы обезьян с летальностью до 10-20%. Таким образом, необходимо наличие высокоэффективных противовирусных препаратов, которые бы обладали высокой активностью, умеренной токсичностью и продолжительным действием против вирусов оспы, патогенных для человека и животных.

Вирусы - это внутриклеточные паразиты, которые не имеют независимого метаболизма и могут размножаться только в живых клетках организма. Так как процессы репликации вирусов тесно связаны с метаболизмом клеток организма, то можно понять, как сложно создать лекарственные средства, оказывающие избирательное противовирусное действие.

Направленность действия противовирусных препаратов может быть различной и касаться разных стадий взаимодействия вируса с клеткой.

Такие препараты, в основном, действуют следующим образом:

- угнетают адсорбцию вируса на клетке или проникновение его в клетку, а также процесс высвобождения вирусного генома;
- угнетают синтез «ранних» вирусных белков-ферментов (гуанидин);
- угнетают синтез нуклеиновых кислот (индоксуридин - ингибитор синтеза ДНК, актиномицин D-ингибитор синтеза РНК);
- угнетают «сборку» вирионов, угнетая синтез вирусного структурного белка;
- повышают резистентность клетки к вирусу (интерфероны).

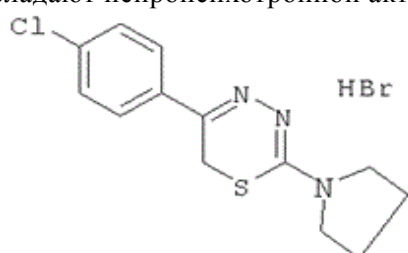
Одним из механизмов действия ранее известных 2-циклоалкилимино-5-арил-1,3,4-тиадиазинов является связывание их с активными группировками макромолекул субстратов - рецепторами [2]. Для этих соединений найдено редкое сочетание серотонино-, адрено- и холиноблокирующих свойств. Такая «обширная блокада» рецепторов клетки позволяет предположить как наиболее вероятную направленность действия для заявляемых препаратов - угнетение проникновения вируса в клетку.

Предшествующий уровень техники

На фармацевтическом рынке в настоящее время практически нет препаратов, активных в отношении вирусов группы оспы; в этой связи разработка таких веществ может стать важным шагом в фармакологической безопасности жизни людей.

Существующий препарат метисазон (Марборан<sup>®</sup>) обладает только профилактической, но не лечебной активностью в отношении вируса натуральной оспы. Препарат цидофовир (Vistide<sup>®</sup>) проходит в настоящее время исследования как профилактический или лечебный препарат, но пока его исследования не закончены.

В ряду 2-циклоалкилимино-5-арил-1,3,4-тиадиазинов, к которым принадлежат заявляемые новые соединения, связь «структура - свойство» очень чувствительна: известен целый ряд их производных, имеющих небольшие отличия в структуре - другие заместители в фенильном кольце и различные циклоалкилимины в положении-2 1,3,4-тиадиазинового кольца, которые обладают сердечно-сосудистым и снижающим метаболизм животных действием [1]. Известны также данные о биологической активности близких по структуре к заявляемым для патентования соединений: 2-морфолино-5-фенил-1,3,4-тиадазин, гидрохлорида и еще более близкого - 2-пирролидино-5-(4-хлорфенил)-1,3,4-тиадазин, гидробромида, которые обладают нейрорепрессивной активностью [2]:



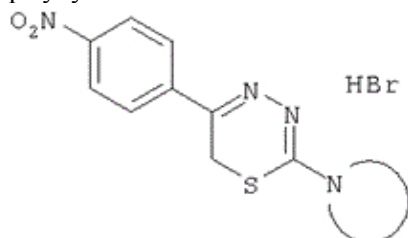
Данное соединение отличается по структуре от заявляемых тем, что в качестве заместителя в фенильном кольце содержит хлор-, а не нитрогруппу. Все

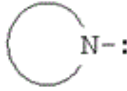
вышеупомянутые соединения не обладают противовирусной активностью и противовирусным действием в отношении вирусов оспы, патогенных для человека и животных.

#### Раскрытие изобретения

Техническим результатом предлагаемого изобретения является нахождение новых химических соединений - производных 1,3,4-тиадиазина, обладающих противовирусным действием, в частности в отношении вирусов оспы, патогенных для человека.

Указанный технический результат достигается тем, что согласно изобретению предложены новые 2-циклоалкилимино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадиазины, обладающие биологической активностью против вирусов оспы и имеющие общую формулу 1.



I  
где  пиперидино; пирролидино; метилпиперазино; гексаметиленимино.

Примеры синтеза и физико-химические характеристики заявляемых соединений

Все соединения получены с выходом 60-80% путем конденсации  $\alpha$ -бром-4-нитроацетофенона с соответствующими 4,4-циклоалкилиминоосемикарбазидами [3], протекающей гладко при нагревании в этаноле. Строение соединений доказано спектральными данными  $^1\text{H}$  ЯМР. Чистота соединений подтверждается элементарным анализом.

#### Пример 1.

2-Пиперидино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадазин, гидробромид (1).

Соединение 1 получено нагреванием на водяной бане в течение 20 минут в 50 мл абсолютного этанола 2.5 г (0.01 моль)  $\alpha$ -бром-4-нитроацетофенона с 1.6 г (0.01 моль) 4,4-пентаметилентиосемикарбазида и 1,4 мл концентрированной HBr.

Смесь охлаждают льдом до получения желтого осадка. Продукт кристаллизуют из этанола с добавлением нескольких капель HBr (конц.). Выход 68%.

Т.пл. 214-215°C. Найдено, %: C 44.1; H 4.7; N 14.3.  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{BrN}_4\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: C 43.8; H 4.4; N 14.5.  $^1\text{H}$  ЯМР в DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm: 1.5-1.8 [6H, m,  $(\text{CH}_2)_3$ , пиперидино]; 3.6-3.8 [4H, m,  $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ , пиперидино]; 3.27 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{S}$ ); 8.1, 8.3 (4H, dd,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ).

#### Пример 2

2-Пирролидино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадазин, гидробромид (2).

Соединение 2 получено аналогично 1 нагреванием 2.5 г (0.01 моль)  $\alpha$ -бром-4-нитроацетофенона с 1.45 г (0.01 моль) 4,4-тетраметилентиосемикарбазида.

Выход 54%. Т.пл. 211-212°C Найдено, %: C 41.7; H 4.0; N 5.3.  $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{BrN}_4\text{O}_2\text{S}$ .

Вычислено, %: C 42.05; H 4.07; N 15.1.  $^1\text{H}$  ЯМР в DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm: 2,1 [4H, m,  $(\text{CH}_2)_2$ , пирролидино]; 3.7 [4H, m,  $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ , пирролидино]; 4,45 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{S}$ ); 7.7, 7.8 (4H, dd,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ).

#### Пример 3

2-(N-метилпиперазино)-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадазин, дигидробромид (3).

Соединение 3 получено аналогично 1 нагреванием 2.5 г (0.01 моль)  $\alpha$ -бром-4-нитроацетофенона с 1.74 г (0.01 моль) N-метилпиперазинида тиокарбазиновой кислоты. Выход 82%. Т.пл. 223-224°C. Найдено, %: C 34.5; H 4.2; N 14.3.

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено, %: C 34.7; H 4.0; N 14.5.  $^1\text{H}$  ЯМР в DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm: 3,6 [8 H, m, метилпиперазино]; 4,4 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{S}$ ); 7.4, 7.8 (4H, dd,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ).

#### Пример 4

2-Гексаметиленимино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадазин, гидробромид (4).

Соединение 4 получено аналогично 1 нагреванием 2.5 г (0.01 моль)  $\alpha$ -бром-4-нитроацетофенона с 1.73 г (0.01 моль) 4,4-гексаметиленентиосемикарбазида. Выход 75%. Т.пл. 220-221°C. Найдено, %: C 45,3; H 4,9; N 13,8.  $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{BrN}_4\text{O}_2\text{S}$ . Вычислено,

%, С 45,1; Н 4,8; N 14,0.  $^1\text{H}$  ЯМР в DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm: 1.7-1.9 [8H, m,  $(\text{CH}_2)_4$ , гексаметиленимино]; 3.95 [4H, m,  $\text{N}(\text{CH}_2)_2$ , гексаметиленимино]; 4,5 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{S}$ ); 8.2, 8.4 (4H, dd,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ).

Исследование противовирусной активности заявляемых соединений

Оценка противовирусного действия заявляемых соединений 1-4 проведена в Государственном научном центре вирусологии и биотехнологии «Вектор». Для оценки использовали следующую методику.

Культуру клеток Vero или МК-2 выращивали в лунках плоскодонных 96-луночных планшетов. В культуральную среду добавляли серийные разведения исследуемых соединений и соответствующий вирус. После инкубирования в течение 3-5 суток монослой клеток окрашивали витальным красителем нейтральным красным, после удаления красителя и отмывки его избытка вносили лизирующий раствор и количество красителя, включенного в монослой клеток, учитывали на спектрофотометре при длине волны 490 нм. В качестве контролей использовали лунки планшета, в которые вирус не вносили (контроль культуры клеток). Данная методика основана на способности тестируемых соединений предотвращать репродукцию вируса и его распространение от клетки к клетке, в связи с чем клетки не погибают и сохраняют способность фагоцитировать нейтральный красный.

В качестве исследуемых вирусов использовали вирус VV - осповакцины (штамм ЛИПВ), используемый для вакцинации населения, CPV - вирус оспы коров (штамм Гришак), MPV - вирус оспы обезьян (штамм Zair 599). Помимо ортопоксвирусов, патогенных для человека, для оценки противовирусной активности использовали вирус экстремелии оспы мышей (штамм МК-2).

Результаты изучения противовирусного действия соединений приведены в таблице.

Высокий индекс эффективности ( $\text{IS}=1527,8$ ) был выявлен для соединения 1: 2-пиперидино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадиазина, гидробромида как на вирусах осповакцины, так и на вирусах оспы коров.

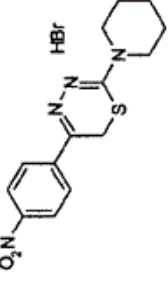
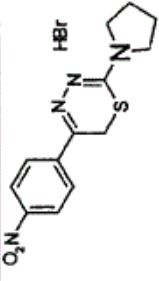
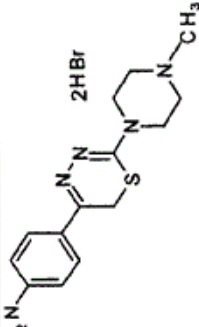
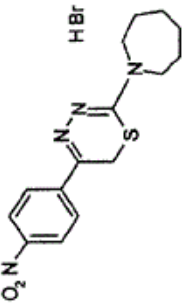
Для соединения 2: 2-пирролидино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадиазина, гидробромида высокий индекс эффективности ( $\text{IS}=814,3$ ) был выявлен только на вирусах осповакцины, а для соединения 3-2-метилпиперазино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадиазина, гидробромида противовирусная эффективность ( $\text{IS}=413,5$ ) была выявлена только на вирусах оспы мышей. Соединение 4: 2-циклогексиметиленимино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадазин, гидробромид оказалось токсичным, но проявило высокую активность на вирусах осповакцины ( $\text{IC}_{50}=0,182$  мг/мл).

Промышленная применимость.

Данные соединения могут быть использованы в качестве потенциальных фармакологически активных веществ для производства лекарств, позволяющих лечить оспу или поствакцинальные осложнения после вакцинации с использованием вируса осповакцины у человека и животных. Изобретение может быть использовано в медицине и ветеринарии, лечебных учреждениях, научно-исследовательских лабораториях.

Таблица

## Активность 2-циклоалкилимино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадиазинов против вирусов оспы

№ соединения	Формула соединения	Культура клеток	ТС <sub>50</sub> мг/мл	Вирусы оспы			
				Противовирусная активность (ТС <sub>50</sub> мг/мл)			Mousepox
				VV (индекс эффективности IS= TC <sub>50</sub> / IC <sub>50</sub> )	CPV	MPV	
1		Vero	55	0,036 (1527,8)	0,036 (1527,8)	n/a	0,465 (118,2)
2		Vero МК-2	57 11,152	0,07 (814,3) 5,435	5,961 - n/a	n/a	4,051 - 26,18
3		Vero МК-2	39,7 42,44	0,8 (49,6) •	2,585 - n/a	1,231 - 0,374 (113,5)	0,096 (413,5) 1,221 -
4		Vero	6,852	0,182 (37,6)	•	•	•

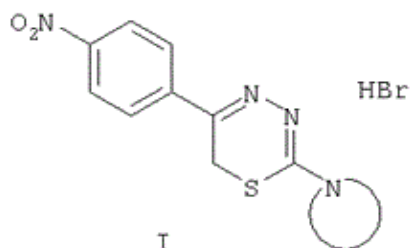
• - не исследовалось; VV - вирус оспавакцины; CPV - вирус оспы коров; MPV - вирус оспы обезьян; Mousepox - вирус оспы мышей

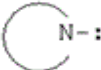
Источники научно-технической информации

1. О.Н. Чупахин, Л.П. Сидорова и др. Патент РСТ Российской Федерации №2157210 (2000 г.).
2. Э.Ф. Лаврецкая, О.Н. Чупахин, Л.П. Сидорова и др., авт. свид. №1475126 (1988 г.).
3. В.Я. Казаков, И.Я. Постовский, ДАН СССР, т.4, с.824-827 (1960 г.).

Формула изобретения

2-Циклоалкилимино-5-(4-нитрофенил)-1,3,4-тиадиазины, обладающие биологической активностью против вирусов оспы и имеющие общую формулу



I  
где : пиперидино; пирролидино; метилпиперазино; гексаметиленимино.

## ИЗВЕЩЕНИЯ

**ММ4А - Досрочное прекращение действия патента СССР или патента Российской Федерации на изобретение из-за неуплаты в установленный срок пошлины за поддержание патента в силе**

(21) Регистрационный номер заявки: [2005129447](#)

Дата прекращения действия патента: **22.09.2007**

Извещение опубликовано: [27.06.2009](#)      БИ: 18/2009